

PCT
 WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
 Internationales Büro
 INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
 INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)



<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C07K 14/00</p>	A2	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/17233</p> <p>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 30. März 2000 (30.03.00)</p>								
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 45%; border: none; vertical-align: top;"> <p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/07055</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 22. September 1999 (22.09.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">198 43 279.8</td> <td style="width: 30%;">22. September 1998 (22.09.98)</td> <td style="width: 40%;">DE</td> </tr> <tr> <td>199 23 567.8</td> <td>21. Mai 1999 (21.05.99)</td> <td>DE</td> </tr> </table> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: JOMAA, Hassan [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Gießen (DE).</p> <p>(74) Anwälte: PANTEN, Kirsten usw.; Reichel und Reichel, Park- strasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).</p> </td> <td style="width: 55%; border: none; vertical-align: top;"> <p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), curasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/07055</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 22. September 1999 (22.09.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">198 43 279.8</td> <td style="width: 30%;">22. September 1998 (22.09.98)</td> <td style="width: 40%;">DE</td> </tr> <tr> <td>199 23 567.8</td> <td>21. Mai 1999 (21.05.99)</td> <td>DE</td> </tr> </table> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: JOMAA, Hassan [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Gießen (DE).</p> <p>(74) Anwälte: PANTEN, Kirsten usw.; Reichel und Reichel, Park- strasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).</p>	198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE	199 23 567.8	21. Mai 1999 (21.05.99)	DE	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), curasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/07055</p> <p>(22) Internationales Anmeldedatum: 22. September 1999 (22.09.99)</p> <p>(30) Prioritätsdaten:</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 30%;">198 43 279.8</td> <td style="width: 30%;">22. September 1998 (22.09.98)</td> <td style="width: 40%;">DE</td> </tr> <tr> <td>199 23 567.8</td> <td>21. Mai 1999 (21.05.99)</td> <td>DE</td> </tr> </table> <p>(71)(72) Anmelder und Erfinder: JOMAA, Hassan [DE/DE]; Breslauer Strasse 24, D-35398 Gießen (DE).</p> <p>(74) Anwälte: PANTEN, Kirsten usw.; Reichel und Reichel, Park- strasse 13, D-60322 Frankfurt am Main (DE).</p>	198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE	199 23 567.8	21. Mai 1999 (21.05.99)	DE	<p>(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), curasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i></p>			
198 43 279.8	22. September 1998 (22.09.98)	DE								
199 23 567.8	21. Mai 1999 (21.05.99)	DE								
<p>(54) Title: GENES OF THE 1-DESOXY-D-XYLULOSE BIOSYNTHETIC PATHWAY</p> <p>(54) Bezeichnung: GENE DES 1-DESOXY-D-XYLULOSE-BIOSYNTHESEWEGS</p> <p>(57) Abstract</p> <p>The invention relates to the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphate reductoisomerase gene, the 1-desoxy- D-xylulose- 5-phosphate-synthase gene and the gcpE gene of the 1-desoxy- D-xylulose biosynthetic pathway and to their use for transforming vectors, host organisms and plants and for determining substances that inhibit this biosynthetic pathway.</p> <p>(57) Zusammenfassung</p> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft das 1-Desoxy- D-xylulose- 5-phosphatreduktisomerase -Gen, das 1-Desoxy- D-xylulose- 5-phosphat- Synthase- Gen und das gcpE-Gen des 1-Desoxy- D-xylulose- Biosynthesewegs und ihre Verwendung zur Transformation von Vektoren, Wirtsorganismen und Pflanzen und zur Bestimmung von Stoffen, die diesen Biosyntheseweg inhibieren.</p>										

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Gene des 1-Desoxy-D-xylulose-Biosynthesewegs

Die vorliegende Erfindung betrifft DNA-Sequenzen, die bei Integration in das Genom von Viren, Eukaryonten und Prokaryonten die Isoprenoid-Biosynthese verändern sowie gentechnologische Verfahren zur Herstellung dieser transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten. Außerdem betrifft sie Verfahren zur Identifizierung von Stoffen mit herbizider, antimikrobieller, antiparasitärer, antiviraler, fungizider, bakterizider Wirkung bei Pflanzen und antimikrobieller, antiparasitärer, antimykotischer, antibakterieller und antiviraler Wirkung bei Mensch und Tier.

Der Biosyntheseweg zur Bildung von Isoprenoiden über den klassischen Acetat/ Mevalonat-Weg und einen alternativen, Mevalonat-unabhängigen Biosyntheseweg, den Desoxy-D-xylulose-Phosphat-Weg, ist bereits bekannt (Rohmer, M., Knani, M., Simonin, P., Sutter, B., and Sahm, H. (1993): Biochem. J. 295: 517-524).

Es ist aber nicht bekannt, wie und über welche Wege in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten eine Änderung der Isoprenoidkonzentration über den Desoxy-D-xylulose-Phosphat-Weg erreicht werden kann. In Fig. 1 ist dieser Biosyntheseweg dargestellt.

Es werden daher DNA-Sequenzen zur Verfügung gestellt, die für die 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase (DOXP-Synthase), : 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase (DOXP-Reduktoisomerase) oder das gcpE-Protein kodieren. Alle drei Gene und Enzyme sind an der Isoprenoid-Biosynthese beteiligt.

Das gcpE-Protein hat eine Kinasefunktion und katalysiert die Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrose-

phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat. In der Vorstufe der Isoprenoidsynthese katalysiert das gcpE-Protein insbesondere die Phosphorylierung der folgenden Substanzen:

$\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$,
 $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{OH}$
 $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{OH}$,
 $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$,
 $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$
 $\text{CHO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CHO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$,
 $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}-\text{OH}$
 $\text{CH}(\text{OH})=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $\text{CH}(\text{OH})=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$,
 $(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$,
 $(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2$, $(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}$.

Die DOXP-Synthase katalysiert die Kondensation von Pyruvat und Glyceraldehyd-3-phosphat zu 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat und die DOXP-Reduktoisomerase katalysiert die Umwandlung von 1-Deoxy-D-xylulose-5-phosphat zu 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat. (siehe Fig. 1).

Die Erfindung betrifft die folgenden DNA-Sequenzen:

DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind,

DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:4 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:4, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind,

sowie DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO: 6, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.

Die Gene und ihre Genprodukte (Polypeptide) sind im Sequenzprotokoll mit ihrer Primärstruktur aufgeführt und haben folgende Zuordnung:

SEQ ID NO:1: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase-Gen
SEQ ID NO:2: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphatreduktoisomerase
SEQ ID NO:3: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase-Gen
SEQ ID NO:4: 1-Desoxy-D-xylulose-5-phosphat-Synthase
SEQ ID NO:5: gcpE-Gen
SEQ ID NO:6 : gcpE-Proteine.

Die DNA-Sequenzen stammen alle aus *Plasmodium falciparum*.

Außer den im Sequenzprotokoll genannten DNA-Sequenzen sind auch solche geeignet, die infolge der Degeneration des genetischen Codes eine andere DNA-Sequenz besitzen, jedoch für das gleiche Polypeptid oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids kodieren, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.

Die erfindungsgemäßen Sequenzen eignen sich für die Expression von Genen in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten, die für die Isoprenoid-Biosynthese des 1-Desoxy-D-xylulose-Wegs verantwortlich sind.

Erfindungsgemäß gehören zu den Eukaryonten oder eukaryontischen Zellen tierischen Zellen, Pflanzenzellen, Algen, Hefen, Pilze und zu den Prokaryonten oder prokaryontischen Bakterien Archaeobakterien und Eubakterien.

Bei Integration einer DNA-Sequenz in ein Genom, auf der eine der oben angegebenen DNA-Sequenzen lokalisiert ist, wird die Expression der oben beschriebenen Gene in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten ermöglicht. Die erfindungsgemäß transformierten Viren, Eukaryonten und Prokaryonten werden in an sich bekannter Weise gezüchtet und das währenddessen gebildete Isoprenoid isoliert und gegebenenfalls gereinigt. Nicht alle Isoprenoide müssen isoliert werden, da die Isoprenoide in einigen Fällen direkt in die Raumluft abgegeben werden.

Die Erfindung betrifft ferner ein Verfahren zur Herstellung von transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Veränderung des Isoprenoid-Gehaltes, das die folgenden Schritte enthält.

- a) Herstellung einer DNA-Sequenz mit folgenden Teilsequenzen
 - i) Promotor, der in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten aktiv ist und die Bildung einer RNA im vorgesehenen Zielgewebe oder den Zielzellen sicherstellt,
 - ii) DNA-Sequenz, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO:2,4 oder 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2,4 oder 6,
 - iii) 5'- und 3'-nichttranslatierte Sequenz, die in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten die Expression der bezeichneten Gene ermöglichen oder verbessern,
- b) Transfer und Einbau der DNA-Sequenz in das Genom von Viren, prokaryontischen oder eukaryontischen Zellen mit oder ohne Verwendung eines Vektors (z.B. Plasmid, virale DNA).

Aus derart transformierten Pflanzenzellen können die intakten ganzen Pflanzen regeneriert werden.

Die für die Proteine kodierenden Sequenzen mit den Nukleotidabfolgen Seq ID NO:1, Seq ID NO:3 und Seq ID NO: 5 können mit einem die Transkription in bestimmten Organen oder Zellen sicherstellenden Promotor versehen werden, der in sense-Orientierung (3'-Ende des Promotors zum 5'-Ende der kodierenden Sequenz) an die Sequenz, die das zu bildende Protein kodiert, gekoppelt ist. An das 3'-Ende der kodierenden Sequenz wird ein die Termination der mRNA-Synthese bestimmendes Terminationssignal angehängt. Um das zu exprimierende Protein in bestimmte subzelluläre Kompartimente, wie Chloroplasten, Amyloplasten, Mitochondrien, Vakuole, Cytosol oder Interzellularräume zu dirigieren, kann zwischen den Promotor und die kodierende Sequenz noch eine für eine sogenannte Signalsequenz oder ein Transitpeptid kodierende Sequenz gesetzt werden. In einigen Fällen ist es erforderlich, Sequenzen einzufügen, die für eine Signalsequenz am COOH-Terminus des Proteins kodieren. Die Sequenz muß im glei-

chen Leserahmen wie die kodierende Sequenz des Proteins sein. Zur Vorbereitung der Einführung der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen in höhere Pflanzen sind eine große Anzahl von Klonierungsvektoren verfügbar, die ein Replikationssignal für E.coli und einen Marker beinhalten, der eine Selektion der transformierten Zellen erlaubt. Je nach Einführungsmethode erforderlich sein. Werden zum Beispiel für die Transformation der Pflanzenzelle das Ti- oder Ri-Plasmid verwendet, so muß mindestens eine rechte Begrenzung, häufig jedoch die rechte und die linke Begrenzung der Ti- und Ri-Plasmid T-DNA als Flankenbereich den einzuführenden Genen eingefügt werden. Die Verwendung von T-DNA für die Transformation von Pflanzenzellen ist intensiv untersucht und ausreichend in EP 120516; Hoekama, in: The Binary Plant Vector System, Offset-drukkerij Kanter B.V. Alblasterdam (1985), Chapter V; Fraley et al., Crit.Rev.Plant Sci. 4,1-46 und An et al. (1985) EMBO J. 4, 277-287 beschrieben worden. Ist die eingeführte DNA einmal im Genom integriert, so ist sie in der Regel stabil und bleibt auch in den Nachkommen der ursprünglich transformierten Zellen erhalten. Sie erhält normalerweise einen Selektionsmarker, der den transformierten Pflanzenzellen Resistenz gegenüber einem Biozid oder einem Antibiotikum, wie Kanamycin, G 418, Bleomycin, Hygromycin oder Phosphinotricin u.a. vermittelt. Der individuell verwendete Marker sollte daher die Selektion transformierter Zellen gegenüber Zellen, denen die eingefügte DNA fehlt, gestatten.

Für die Einführung von DNA in eine Pflanze stehen viele Techniken zur Verfügung. Diese Techniken umfassen die Transformation mit Hilfe von Agrobakterien, z.B. Agrobacterium tumefaciens, die Fusion von Protoplasten, die Mikroinjektion von DNA, die Elektroporation, sowie ballistische Methoden und die Virusinfektion. Aus dem transformierten Pflanzenmaterial können dann im geeigneten Medium, welches Antibiotika oder Biozide zur Selektion enthalten kann, wieder ganze Pflanzen regeneriert werden. Bei der Injektion und Elektroporation sind an sich keine speziellen Anforderungen an die Plasmide gestellt. Sollen aber aus derartig transformierten Zellen ganze Pflanzen regeneriert werden, ist die Anwesenheit eines selektierbaren Markergens not-

wendig. Die transformierten Zellen wachsen innerhalb der Pflanzen in der üblichen Weise (McCormick et al. (1986), Plant Cell Reports 5, 81-84). Die Pflanzen können normal angezogen werden und mit Pflanzen, die die gleiche transformierte Erbanlage oder andere Erbanlagen haben, gekreuzt werden. Die daraus entstehenden Individuen haben die entsprechenden phänotypischen Eigenschaften.

Weiterhin sind Gegenstand der Erfindung Expressionsvektoren, die eine oder mehrere der erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen enthalten. Solche Expressionsvektoren erhält man, indem man die erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen mit geeigneten funktionellen Regulationssignalen versieht. Solche Regulationssignale sind DNA-Sequenzen, die für die Expression verantwortlich sind, beispielsweise Promotoren, Operatoren, Enhancer, ribosomale Bindungsstellen, und die vom Wirtsorganismus erkannt werden.

Gegebenenfalls können noch weitere Regulationssignale, die beispielsweise Replikation oder Rekombination der rekombinanten DNA im Wirtsorganismus steuern, Bestandteil des Expressionsvektors sein.

Ebenso gehören die mit den erfindungsgemäßen DNA-Sequenzen oder Expressionsvektoren transformierten Wirtsorganismen zum Gegenstand der Erfindung.

Für die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme eignen sich besonders solche Wirtszellen und Organismen, die keine intrinsischen Enzyme mit der Funktion der DOXP-Synthase, der DOXP-Reduktoisomerase oder des gcpE-Proteins aufweisen. Dies trifft für Archaeobakterien, Tiere, Pilze, Schleimpilze und einige Eubakterien zu. Durch das Fehlen dieser intrinsischen Enzymaktivitäten wird die Detektion und Aufreinigung der rekombinanten Enzyme wesentlich erleichtert. Auch wird es erst dadurch möglich, mit geringem Aufwand die Aktivität und insbesondere die Hemmung der Aktivität der erfindungsgemäßen rekombinanten Enzyme durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka in Rohextrakten aus den Wirtszellen zu messen.

Die Expression der erfindungsgemäßen Enzyme erfolgt vorteilhafterweise dann in eukaryontischen Zellen, wenn posttranslatorische Modifikationen und eine native Faltung der Polypeptidkette erreicht werden soll. Außerdem wird in Abhängigkeit vom Expressionssystem bei der Expression genomischer DNA-Sequenzen erreicht, daß Introns durch Spleißen der DNA beseitigt und die Enzyme in der für die Parasiten charakteristischen Polypeptidsequenz produziert werden. Für Introns codierende Sequenzen können auch durch rekombinante DNA-Technologie aus den zu exprimierenden DNA-Sequenzen beseitigt oder experimentell eingefügt werden.

Die Isolierung des Proteins kann aus der Wirtszelle oder dem Kulturüberstand der Wirtszelle nach dem Fachmann bekannten Verfahren erfolgen. Es kann auch eine in vitro Reaktivierung der Enzyme erforderlich sein.

Zur Erleichterung der Aufreinigung können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit verschiedenen Peptidketten exprimiert werden. Dazu eignen sich besonders Oligo-Histidin-Sequenzen und Sequenzen, die von der Glutathion-S-Transferase, Thioredoxin oder Calmodulin-bindenden Peptiden abgeleitet sind.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme oder Teilsequenzen der Enzyme als Fusionsprotein mit solchen, dem Fachmann bekannten, Peptidketten exprimiert werden, daß die rekombinanten Enzyme in das extrazelluläre Milieu oder in bestimmte Kompartimente der Wirtszellen transportiert werden. Dadurch kann sowohl die Aufreinigung, als auch die Untersuchung der biologischen Aktivität der Enzyme erleichtert werden.

Bei der Expression der erfindungsgemäßen Enzyme kann es sich als zweckmäßig erweisen, einzelne Codone zu verändern. Dabei

ist der gezielte Austausch von Basen in der kodierenden Region auch sinnvoll, wenn die genutzten Codone in den Parasiten abweichend sind von der Codonnutzung im heterologen Expressionssystem, um eine optimale Synthese des Proteins zu gewährleisten.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen Enzyme unter standardisierten Bedingungen durch dem Fachmann bekannte Techniken durch in vitro-Translation gewonnen werden. Dafür geeignete Systeme sind Kaninchen-Reticulozyten- und Weizenkeimextrakte und Bakterienlysate. Auch kann in vitro transskribierte mRNA in Xenopus-Oocyten translatiert werden.

Durch chemische Synthese können Oligo- und Polypeptide hergestellt werden, deren Sequenzen aus der Peptidsequenz der erfindungsgemäßen Enzyme abgeleitet sind. Bei geeigneter Wahl der Sequenzen besitzen derartige Peptide Eigenschaften, die für die erfindungsgemäßen Enzyme charakteristisch sind. Derartige Peptide können in großen Mengen hergestellt werden und eignen sich besonders für Studien über die Kinetik der Enzymaktivität, die Regulation der Enzymaktivität, die dreidimensionale Struktur der Enzyme, die Hemmung der Enzymaktivität durch verschiedenen Chemikalien und Pharmaka und die Bindungsgeometrie und Bindungsaffinität verschiedener Liganden.

Vorzugsweise wird zur rekombinanten Herstellung der erfindungsgemäßen Enzyme eine DNA mit den Nukleotiden aus den Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 und 5 verwendet.

Die Erfindung umfaßt daher außerdem ein Verfahren zum Screening nach Verbindungen, die desDesoxy-D-xylulose-Phosphat-Stoffwechselweg inhibieren. Gemäß diesem Verfahren wird ein Wirtsorganismus, der einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Oligonukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Homologe dieser aufweist, und außerdem eine

Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimikrobielle, antiparasitäre, antibakterielle, antivirale und antimykotische Wirkung bei Mensch und Tier oder eine antimikrobielle, antivirale, bakterizide, herbizide oder fungizide Wirkung bei Pflanzen hat, bereitgestellt. Anschließend wird der Wirtsorganismus mit der Verbindung in Kontakt gebracht und die Wirksamkeit der Verbindung bestimmt.

Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung sind Methoden zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität des gcpE-Proteins. Diese kann nach bekannten Verfahren bestimmt werden. Hierbei wird die Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrose-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat, detektiert. Ein weiterer Gegenstand dieser Erfindung ist die Verwendung dieser Meßverfahren zur Ermittlung von Stoffen, die die Aktivität der jeweiligen Enzyme inhibieren.

Die enzymatische Aktivität von DOXP-Synthase und DOXP-Reduktisomerase kann in einem einzigen Schritt detektiert werden, indem die Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 2-C-Methylerythritol-4-phosphat bestimmt wird.

Analog erfolgt die Bestimmung der Aktivitäten von DOXP-Synthase und DOXP-Reduktoisomerase. Für die Bestimmung der DOXP-Synthase-Aktivität eignen sich auch fluorimetrische Verfahren, wie von Querol et al. beschrieben (Querol et al. Abstracts 4th european symposium on plant isoprenoids, Barcelona 21-23 April 1999).

Patentansprüche

1. DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 2 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:2, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
2. DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 4 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO:4, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
3. DNA-Sequenzen, die für ein Polypeptid mit der in SEQ ID NO: 6 dargestellten Aminosäuresequenz codieren oder für ein Analoges oder Derivat des Polypeptids gemäß SEQ ID NO: 6, worin eine oder mehrere Aminosäuren deletiert, hinzugefügt oder durch andere Aminosäuren substituiert worden sind.
4. DNA-Sequenz gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie außerdem funktionelle Regulations-signale, insbesondere Promotoren, Operatoren, Enhancer, ribosomale Bindungsstellen, aufweist.
5. DNA-Sequenz mit folgenden Teilsequenzen
 - i) Promotor, der in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten aktiv ist und die Bildung einer RNA im vorgesehenen Zielgewebe oder den Zielzellen sicherstellt,
 - ii) DNA-Sequenzen gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3,
 - iii) 3'-nichttranslatierte Sequenz, die in Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Addition von Poly-A Resten an das 3'-Ende der RNA führt.
6. Verfahren zur Herstellung von transgenen Viren, Eukaryonten und Prokaryonten zur Veränderung des Isoprenoid-Gehaltes, dadurch gekennzeichnet, daß eine DNA-Sequenz gemäß Anspruch 4 oder 5 in das Genom von Viren, eukaryontischen und proka-

ryontischen Zellen mit oder ohne Verwendung eines Vektors transferiert und eingebaut wird.

7. Transgene Systeme, insbesondere Pflanzen und Pflanzenzellen, welche ein oder mehrere DNA-Sequenzen gemäß der Ansprüche 1 bis 5 als „fremde“ oder „zusätzliche“ DNA enthalten, die exprimiert werden.
8. Expressionsvektor, enthaltend eine oder mehrere DNA-Sequenzen gemäß Anspruch 1 bis 5.
9. Protein, welches am 1-Deoxy-D-Xylulose-5-Phosphat-Stoffwechselweges beteiligt ist und a) codiert wird von den DNA-Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 oder 5 oder b) codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den DNA-Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3, 5 oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein codiert, hybridisieren.
10. Protein nach den Anspruch 9, erhältlich aus den Kulturüberständen von Parasiten oder aus den aufgeschlossenen Parasiten und Aufreinigung über chromatographische und elektrophoretische Techniken.
11. Protein nach einem der Ansprüche 9 und 10, dadurch gekennzeichnet, daß es a) das Produkt einer viralen, prokaryontischen oder eukaryontischen Expression einer exogenen DNA ist, b) codiert wird von den Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 oder 5 oder codiert wird von DNA-Sequenzen, die mit den in den DNA-Sequenzen SEQ ID NO: 1, 3 oder 5 oder Fragmenten dieser DNA-Sequenzen im DNA-Bereich, der für das reife Protein kodiert, hybridisieren, oder c) codiert wird von DNA-Sequenzen, die ohne Degeneration des genetischen Codes mit den in b) definierten Sequenzen hybridisieren würden und für ein Polypeptid mit entsprechender Aminosäure-Sequenz kodieren.

12. Protein gemäß einem der vorangehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß es die Aminosäuresequenzen SEQ ID NO: 2, 4 oder 6 aufweist.
13. Verfahren zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität des gcpE-Proteins, dadurch gekennzeichnet, daß Phosphorylierung eines Zuckers oder eines Phosphorzuckers oder einer Vorstufe der Isoprenoidbiosynthese, insbesondere die Phosphorylierung von 2-C-Methyl-D-erythritol, 2-C-Methyl-D-erythritol-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythritol-4-phosphat, 2-C-Methyl-D-erythrose, 2-C-Methyl-D-erythrose-phosphat, insbesondere 2-C-Methyl-D-erythrose-4-phosphat, und der Phosphat- und Alkoholvorstufen, detektiert wird.
14. Verfahren nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Phosphorylierung der folgenden Phosphate oder Alkohole detektiert wird:
- $$\begin{aligned} &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \text{CH}_2(\text{OH})-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{OH} \\ &\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{OH}, \\ &\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(=\text{CH}_2)-\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH} \\ &\text{CHO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \text{CHO}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &\text{CH}_2(\text{OH})-\text{C}(\text{OH})(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}-\text{OH} \\ &\text{CH}(\text{OH})=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &\text{CH}(\text{OH})=\text{C}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}, \\ &(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CO}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}, \\ &(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{PO}(\text{OH})_2, \\ &(\text{CH}_3)_2\text{HC}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{O}-\text{H}. \end{aligned}$$
15. Verfahren zur gekoppelten Bestimmung der enzymatischen Aktivität der DOXP-Synthase und der DOXP-Reduktase, dadurch gekennzeichnet, daß die Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 2-C-Methylethritol-4-phosphat detektiert wird.

16. Verfahren zum Screening einer Verbindung für die Therapie von infektiösen Prozessen bei Mensch und Tier, wobei das Verfahren umfaßt:
 - a) Bereitstellen einer Wirtszelle, die einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Oligonukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Analoga dieser aufweist, und außerdem eine Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimykotische, antibiotische, antiparasitäre oder antivirale Wirkung bei Mensch und Tier hat,
 - b) In-Kontakt-Bringen der Wirtszelle mit der Verbindung und
 - c) Bestimmung der antimikrobiellen, antimykotischen, antibiotischen, antiparasitären oder antiviralen Wirksamkeit der Verbindung.
17. Verfahren zum Screening nach Verbindungen zur Behandlung von Pflanzen, wobei das Verfahren umfaßt:
 - a) Bereitstellen einer Wirtszelle, die einen rekombinanten Expressionsvektor enthält, wobei der Vektor zumindest einen Teil der Oligonukleotidsequenz gemäß SEQ ID NO:1, SEQ ID NO: 3 oder SEQ ID NO: 5 oder Varianten oder Analoga dieser aufweist, und außerdem eine Verbindung, von der vermutet wird, daß sie eine antimikrobielle, antivirale, antiparasitäre, bakterizide, fungizide oder herbizide Wirkung bei Pflanzen hat,
 - b) In-Kontakt-Bringen der Wirtszelle mit der Verbindung und
 - c) Bestimmung der antimikrobiellen, antiviralen, antiparasitären, bakteriziden, fungiziden oder herbiziden Wirksamkeit der Verbindung.
18. Verwendung von DNA nach einem der Ansprüche 1 bis 5 oder von Proteinen nach einem der Ansprüche 9 bis 12 oder von transgenen Systemen nach Anspruch 7 zur Vorbeugung oder Therapie von Erkrankungen bei Mensch und Tier.

1
SEQUENZPROTOKOLL

<110> Jomaa, Hassan

<120> Gene des 1-Desoxy-D-xylulose-Biosynthesewegs

<130> 15696

<140> PCT/EP99

<141> 1999-09-22

<150> DE19923567.8

<151> 1999-05-22

<150> DE19843279.8

<151> 1998-09-22

<160> 6

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1467

<212> DNA

<213> Plasmodium falciparum

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1467)

<220>

<221> gene

<222> (1)..(1467)

<220>

<221> mRNA

<222> (1)..(1467)

<400> 1

atg aag aaa tat att tat ata tat ttt ttc ttc atc aca ata act att 48

Met Lys Lys Tyr Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Phe Ile Thr Ile Thr Ile

1

5

10

15

aat gat tta gta ata aat aat aca tca aaa tgt gtt tcc att gaa aga 96
 Asn Asp Leu Val Ile Asn Asn Thr Ser Lys Cys Val Ser Ile Glu Arg
 20 25 30

aga aaa aat aac gca tat ata aat tat ggt ata gga tat aat gga cca 144
 Arg Lys Asn Asn Ala Tyr Ile Asn Tyr Gly Ile Gly Tyr Asn Gly Pro
 35 40 45

gat aat aaa ata aca aag agt aga aga tgt aaa aga ata aag tta tgc 192
 Asp Asn Lys Ile Thr Lys Ser Arg Arg Cys Lys Arg Ile Lys Leu Cys
 50 55 60

aaa aag gat tta ata gat att ggt gca ata aag aaa cca att aat gta 240
 Lys Lys Asp Leu Ile Asp Ile Gly Ala Ile Lys Lys Pro Ile Asn Val
 65 70 75 80

gca att ttt gga agt act ggt agt ata ggt acg aat gct tta aat ata 288
 Ala Ile Phe Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Asn Ala Leu Asn Ile
 85 90 95

ata agg gag tgt aat aaa att gaa aat gtt ttt aat gtt aaa gca ttg 336
 Ile Arg Glu Cys Asn Lys Ile Glu Asn Val Phe Asn Val Lys Ala Leu
 100 105 110

tat gtg aat aag agt gtg aat gaa tta tat gaa caa gct aga gaa ttt 384
 Tyr Val Asn Lys Ser Val Asn Glu Leu Tyr Glu Gln Ala Arg Glu Phe
 115 120 125

tta cca gaa tat ttg tgt ata cat gat aaa agt gta tat gaa gaa tta 432
 Leu Pro Glu Tyr Leu Cys Ile His Asp Lys Ser Val Tyr Glu Glu Leu
 130 135 140

aaa gaa ctg gta aaa aat ata aaa gat tat aaa cct ata ata ttg tgt 480
 Lys Glu Leu Val Lys Asn Ile Lys Asp Tyr Lys Pro Ile Ile Leu Cys
 145 150 155 160

ggt gat gaa ggg atg aaa gaa ata tgt agt agt aat agt ata gat aaa 528
 Gly Asp Glu Gly Met Lys Glu Ile Cys Ser Ser Asn Ser Ile Asp Lys
 165 170 175

ata gtt att ggt att gat tct ttt caa gga tta tat tct act atg tat 576

Ile Val Ile Gly Ile Asp Ser Phe Gln Gly Leu Tyr Ser Thr Met Tyr
 180 185 190

gca att atg aat aat aaa ata gtt gcg tta gct aat aaa gaa tcc att 624
 Ala Ile Met Asn Asn Lys Ile Val Ala Leu Ala Asn Lys Glu Ser Ile
 195 200 205

gtc tct gct ggt ttc ttt tta aag aaa tta tta aat att cat aaa aat 672
 Val Ser Ala Gly Phe Phe Leu Lys Lys Leu Leu Asn Ile His Lys Asn
 210 215 220

gca aag ata ata cct gtt gat tca gaa cat agt gct ata ttt caa tgt 720
 Ala Lys Ile Ile Pro Val Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys
 225 230 235 240

tta gat aat aat aag gta tta aaa aca aaa tgt tta caa gac aat ttt 768
 Leu Asp Asn Asn Lys Val Leu Lys Thr Lys Cys Leu Gln Asp Asn Phe
 245 250 255

tct aaa att aac aat ata aat aaa ata ttt tta tgt tca tct gga ggt 816
 Ser Lys Ile Asn Asn Ile Asn Lys Ile Phe Leu Cys Ser Ser Gly Gly
 260 265 270

cca ttt caa aat tta act atg gac gaa tta aaa aat gta aca tca gaa 864
 Pro Phe Gln Asn Leu Thr Met Asp Glu Leu Lys Asn Val Thr Ser Glu
 275 280 285

aat gct tta aag cat cct aaa tgg aaa atg ggt aag aaa ata act ata 912
 Asn Ala Leu Lys His Pro Lys Trp Lys Met Gly Lys Lys Ile Thr Ile
 290 295 300

gat tct gca act atg atg aat aaa ggt tta gag gtt ata gaa acc cat 960
 Asp Ser Ala Thr Met Met Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Thr His
 305 310 315 320

ttt tta ttt gat gta gat tat aat gat ata gaa gtt ata gta cat aaa 1008
 Phe Leu Phe Asp Val Asp Tyr Asn Asp Ile Glu Val Ile Val His Lys
 325 330 335

gaa tgc att ata cat tct tgt gtt gaa ttt ata gac aaa tca gta ata 1056
 Glu Cys Ile Ile His Ser Cys Val Glu Phe Ile Asp Lys Ser Val Ile
 340 345 350

agt caa atg tat tat cca gat atg caa ata ccc ata tta tat tct tta 1104
 Ser Gln Met Tyr Tyr Pro Asp Met Gln Ile Pro Ile Leu Tyr Ser Leu
 355 360 365

aca tgg cct gat aga ata aaa aca aat tta aaa cct tta gat ttg gct 1152
 Thr Trp Pro Asp Arg Ile Lys Thr Asn Leu Lys Pro Leu Asp Leu Ala
 370 375 380

cag gtt tca act ctt aca ttt cat aaa cct tct tta gaa cat ttc ccg 1200
 Gln Val Ser Thr Leu Thr Phe His Lys Pro Ser Leu Glu His Phe Pro
 385 390 395 400

tgt att aaa tta gct tat caa gca ggt ata aaa gga aac ttt tat cca 1248
 Cys Ile Lys Leu Ala Tyr Gln Ala Gly Ile Lys Gly Asn Phe Tyr Pro
 405 410 415

act gta cta aat gcg tca aat gaa ata gct aac aac tta ttt ttg aat 1296
 Thr Val Leu Asn Ala Ser Asn Glu Ile Ala Asn Asn Leu Phe Leu Asn
 420 425 430

aat aaa att aaa tat ttt gat att tcc tct ata ata tcg caa gtt ctt 1344
 Asn Lys Ile Lys Tyr Phe Asp Ile Ser Ser Ile Ile Ser Gln Val Leu
 435 440 445

gaa tct ttc aat tct caa aag gtt tcg gaa aat agt gaa gat tta atg 1392
 Glu Ser Phe Asn Ser Gln Lys Val Ser Glu Asn Ser Glu Asp Leu Met
 450 455 460

aag caa att cta caa ata cat tct tgg gcc aaa gat aaa gct acc gat 1440
 Lys Gln Ile Leu Gln Ile His Ser Trp Ala Lys Asp Lys Ala Thr Asp
 465 470 475 480

ata tac aac aaa cat aat tct tca tag 1467
 Ile Tyr Asn Lys His Asn Ser Ser
 485

<210> 2

<211> 488

<212> PRT

<213> Plasmodium falciparum

<400> 2

Met Lys Lys Tyr Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Phe Ile Thr Ile Thr Ile
1 5 10 15

Asn Asp Leu Val Ile Asn Asn Thr Ser Lys Cys Val Ser Ile Glu Arg
20 25 30

Arg Lys Asn Asn Ala Tyr Ile Asn Tyr Gly Ile Gly Tyr Asn Gly Pro
35 40 45

Asp Asn Lys Ile Thr Lys Ser Arg Arg Cys Lys Arg Ile Lys Leu Cys
50 55 60

Lys Lys Asp Leu Ile Asp Ile Gly Ala Ile Lys Lys Pro Ile Asn Val
65 70 75 80

Ala Ile Phe Gly Ser Thr Gly Ser Ile Gly Thr Asn Ala Leu Asn Ile
85 90 95

Ile Arg Glu Cys Asn Lys Ile Glu Asn Val Phe Asn Val Lys Ala Leu
100 105 110

Tyr Val Asn Lys Ser Val Asn Glu Leu Tyr Glu Gln Ala Arg Glu Phe
115 120 125

Leu Pro Glu Tyr Leu Cys Ile His Asp Lys Ser Val Tyr Glu Glu Leu
130 135 140

Lys Glu Leu Val Lys Asn Ile Lys Asp Tyr Lys Pro Ile Ile Leu Cys
145 150 155 160

Gly Asp Glu Gly Met Lys Glu Ile Cys Ser Ser Asn Ser Ile Asp Lys
165 170 175

Ile Val Ile Gly Ile Asp Ser Phe Gln Gly Leu Tyr Ser Thr Met Tyr
180 185 190

Ala Ile Met Asn Asn Lys Ile Val Ala Leu Ala Asn Lys Glu Ser Ile
195 200 205

Val Ser Ala Gly Phe Phe Leu Lys Lys Leu Leu Asn Ile His Lys Asn

210 215 220
Ala Lys Ile Ile Pro Val Asp Ser Glu His Ser Ala Ile Phe Gln Cys
225 230 235 240
Leu Asp Asn Asn Lys Val Leu Lys Thr Lys Cys Leu Gln Asp Asn Phe
245 250 255
Ser Lys Ile Asn Asn Ile Asn Lys Ile Phe Leu Cys Ser Ser Gly Gly
260 265 270
Pro Phe Gln Asn Leu Thr Met Asp Glu Leu Lys Asn Val Thr Ser Glu
275 280 285
Asn Ala Leu Lys His Pro Lys Trp Lys Met Gly Lys Lys Ile Thr Ile
290 295 300
Asp Ser Ala Thr Met Met Asn Lys Gly Leu Glu Val Ile Glu Thr His
305 310 315 320
Phe Leu Phe Asp Val Asp Tyr Asn Asp Ile Glu Val Ile Val His Lys
325 330 335
Glu Cys Ile Ile His Ser Cys Val Glu Phe Ile Asp Lys Ser Val Ile
340 345 350
Ser Gln Met Tyr Tyr Pro Asp Met Gln Ile Pro Ile Leu Tyr Ser Leu
355 360 365
Thr Trp Pro Asp Arg Ile Lys Thr Asn Leu Lys Pro Leu Asp Leu Ala
370 375 380
Gln Val Ser Thr Leu Thr Phe His Lys Pro Ser Leu Glu His Phe Pro
385 390 395 400
Cys Ile Lys Leu Ala Tyr Gln Ala Gly Ile Lys Gly Asn Phe Tyr Pro
405 410 415
Thr Val Leu Asn Ala Ser Asn Glu Ile Ala Asn Asn Leu Phe Leu Asn
420 425 430
Asn Lys Ile Lys Tyr Phe Asp Ile Ser Ser Ile Ile Ser Gln Val Leu

435

440

445

Glu Ser Phe Asn Ser Gln Lys Val Ser Glu Asn Ser Glu Asp Leu Met

450

455

460

Lys Gln Ile Leu Gln Ile His Ser Trp Ala Lys Asp Lys Ala Thr Asp

465

470

475

480

Ile Tyr Asn Lys His Asn Ser Ser

485

<210> 3

<211> 3872

<212> DNA

<213> Plasmodium falciparum

<220>

<221> CDS

<222> (126)..(3740)

<220>

<221> gene

<222> (1)..(3870)

<220>

<221> mRNA

<222> (1)..(3870)

<400> 3

ggtaatatatc gtataatata tatataatat attccttacgt atgtatcatt tatgaatcat 60

aataatatcc taaatttacc ttccgttttt gctcgatctt ctcatcttcg tttcagcttt 120

tatca atg att ttt aat tat gtg ttt ttt aag aac ttt gta cca gtt gtt 170

Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val

1

5

10

15

cta tac att ctc ctt ata ata tat att aac tta aat ggc atg aat aat 218

Leu Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn

20

25

30

aaa aat caa ata aaa aca gaa aaa att tat ata aag aaa ttg aat agg 266
 Lys Asn Gln Ile Lys Thr Glu Lys Ile Tyr Ile Lys Lys Leu Asn Arg
 35 40 45

ttg tca agg aaa aat tcg tta tgt agt tct aaa aat aaa ata gca tgc 314
 Leu Ser Arg Lys Asn Ser Leu Cys Ser Ser Lys Asn Lys Ile Ala Cys
 50 55 60

ttg ttc gat ata gga aat gat gat aat aga aat acg aca tat ggc tat 362
 Leu Phe Asp Ile Gly Asn Asp Asp Asn Arg Asn Thr Thr Tyr Gly Tyr
 65 70 75

aat gtg aat gtt aaa aat gat gat att aat tcc tta cta aaa aat aat 410
 Asn Val Asn Val Lys Asn Asp Asp Ile Asn Ser Leu Leu Lys Asn Asn
 80 85 90 95

tat agt aat aaa ttg tac atg gat aag agg aaa aat att aat aat gta 458
 Tyr Ser Asn Lys Leu Tyr Met Asp Lys Arg Lys Asn Ile Asn Asn Val
 100 105 110

att agt act aat aaa ata tct ggg tcc att tca aat att tgt agt aga 506
 Ile Ser Thr Asn Lys Ile Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Cys Ser Arg
 115 120 125

aat caa aaa gaa aat gaa caa aaa aga aat aaa caa aga tgt tta act 554
 Asn Gln Lys Glu Asn Glu Gln Lys Arg Asn Lys Gln Arg Cys Leu Thr
 130 135 140

caa tgt cac act tat aat atg tca cat gaa cag gac aaa cta gct aat 602
 Gln Cys His Thr Tyr Asn Met Ser His Glu Gln Asp Lys Leu Ala Asn
 145 150 155

gat aat aat agg aat aat aaa aag aat ttt aat tta tta ttt ata aat 650
 Asp Asn Asn Arg Asn Asn Lys Lys Asn Phe Asn Leu Leu Phe Ile Asn
 160 165 170 175

tat ttt aat ttg aaa cga atg aaa aat tct ctt cta aat aaa gac aat 698
 Tyr Phe Asn Leu Lys Arg Met Lys Asn Ser Leu Leu Asn Lys Asp Asn
 180 185 190

tcc ttt tac tgt aaa gaa aaa aaa ttg tca ttt ctg cat aag gcc tat 746

Phe Phe Tyr Cys Lys Glu Lys Lys Leu Ser Phe Leu His Lys Ala Tyr
 195 200 205

aaa aaa aaa aat tgc act ttt caa aat tat agt tta aaa aga aaa tct 794
 Lys Lys Lys Asn Cys Thr Phe Gln Asn Tyr Ser Leu Lys Arg Lys Ser
 210 215 220

aat cgt gat tca cat aaa ttg ttt tct gga gaa ttt gac gat tat aca 842
 Asn Arg Asp Ser His Lys Leu Phe Ser Gly Glu Phe Asp Asp Tyr Thr
 225 230 235

aat aat aat gct tta tat gaa tcc gaa aaa aaa gaa tac att aca cta 890
 Asn Asn Asn Ala Leu Tyr Glu Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Ile Thr Leu
 240 245 250 255

aat aat aat aat aaa aat aat aat aat aaa aat aat gat aat aaa aat 938
 Asn Asn Asn Asn Lys Asn Asn Asn Asn Lys Asn Asn Asp Asn Lys Asn
 260 265 270

aat gat aat aat gat tat aat aat aat aat agt tgt aat aat tta gga 986
 Asn Asp Asn Asn Asp Tyr Asn Asn Asn Asn Ser Cys Asn Asn Leu Gly
 275 280 285

gag aga tcc aat cat tat gat aat tat ggt gga gat aat aat aat cca 1034
 Glu Arg Ser Asn His Tyr Asp Asn Tyr Gly Gly Asp Asn Asn Asn Pro
 290 295 300

tgt aat aat aat aat gac aaa tat gat ata gga aaa tat ttc aaa cag 1082
 Cys Asn Asn Asn Asn Asp Lys Tyr Asp Ile Gly Lys Tyr Phe Lys Gln
 305 310 315

att aat acc ttt att aat att gat gaa tat aaa act ata tat ggt gat 1130
 Ile Asn Thr Phe Ile Asn Ile Asp Glu Tyr Lys Thr Ile Tyr Gly Asp
 320 325 330 335

gaa ata tat aaa gaa ata tat gaa cta tat gta gaa aga aat att cct 1178
 Glu Ile Tyr Lys Glu Ile Tyr Glu Leu Tyr Val Glu Arg Asn Ile Pro
 340 345 350

gaa tat tat gaa cga aaa tat ttt tca gaa gat att aaa aag agt gtc 1226
 Glu Tyr Tyr Glu Arg Lys Tyr Phe Ser Glu Asp Ile Lys Lys Ser Val
 355 360 365

10

cta ttt gat ata gat aaa tat aat gat gtc gaa ttt gaa aaa gct ata 1274
 Leu Phe Asp Ile Asp Lys Tyr Asn Asp Val Glu Phe Glu Lys Ala Ile
 370 375 380

aaa gaa gaa ttt ata aat aat gga gtt tat att aat aat ata gat aat 1322
 Lys Glu Glu Phe Ile Asn Asn Gly Val Tyr Ile Asn Asn Ile Asp Asn
 385 390 395

aca tat tat aaa aaa gaa aat att tta ata atg aaa aag ata tta cat 1370
 Thr Tyr Tyr Lys Lys Glu Asn Ile Leu Ile Met Lys Lys Ile Leu His
 400 405 410 415

tat ttc cca tta tta aaa tta att aat aat cca tca gat tta aaa aag 1418
 Tyr Phe Pro Leu Leu Lys Leu Ile Asn Asn Pro Ser Asp Leu Lys Lys
 420 425 430

tta aaa aaa caa tat tta cct tta tta gca cat gaa tta aaa ata ttt 1466
 Leu Lys Lys Gln Tyr Leu Pro Leu Leu Ala His Glu Leu Lys Ile Phe
 435 440 445

tta ttt ttt att gta aat ata aca gga ggt cat ttt tcc tct gtt tta 1514
 Leu Phe Phe Ile Val Asn Ile Thr Gly Gly His Phe Ser Ser Val Leu
 450 455 460

agc tct tta gaa att caa tta tta tta ttg tat att ttt aat caa cca 1562
 Ser Ser Leu Glu Ile Gln Leu Leu Leu Leu Tyr Ile Phe Asn Gln Pro
 465 470 475

tat gat aat gtt ata tat gat ata gga cat caa gca tat gta cat aag 1610
 Tyr Asp Asn Val Ile Tyr Asp Ile Gly His Gln Ala Tyr Val His Lys
 480 485 490 495

ata ttg acc gga aga aaa cta tta ttt cta tca tta aga aat aaa aaa 1658
 Ile Leu Thr Gly Arg Lys Leu Leu Phe Leu Ser Leu Arg Asn Lys Lys
 500 505 510

ggt att agt gga ttc cta aat att ttt gaa agt att tat gat aaa ttt 1706
 Gly Ile Ser Gly Phe Leu Asn Ile Phe Glu Ser Ile Tyr Asp Lys Phe
 515 520 525

ggg gct ggt cac agt tcc act tca tta agt gct ata caa gga tat tat 1754

Gly	Ala	Gly	His	Ser	Ser	Thr	Ser	Leu	Ser	Ala	Ile	Gln	Gly	Tyr	Tyr		
		530						535					540				
gaa	gcc	gag	tgg	caa	gtg	aag	aat	aaa	gaa	aaa	tat	gga	aat	gga	gat	1802	
Glu	Ala	Glu	Trp	Gln	Val	Lys	Asn	Lys	Glu	Lys	Tyr	Gly	Asn	Gly	Asp		
		545					550						555				
ata	gaa	ata	agt	gat	aac	gca	aat	gtc	acg	aat	aat	gaa	agg	ata	ttt	1850	
Ile	Glu	Ile	Ser	Asp	Asn	Ala	Asn	Val	Thr	Asn	Asn	Glu	Arg	Ile	Phe		
560							565				570				575		
caa	aaa	gga	ata	cac	aat	gat	aat	aat	att	aac	aat	aat	att	aat	aat	1898	
Gln	Lys	Gly	Ile	His	Asn	Asp	Asn	Asn	Ile	Asn	Asn	Asn	Ile	Asn	Asn		
					580					585					590		
aat	aat	tat	atc	aat	cct	tca	gat	gtg	gta	gga	aga	gaa	aat	acg	aat	1946	
Asn	Asn	Tyr	Ile	Asn	Pro	Ser	Asp	Val	Val	Gly	Arg	Glu	Asn	Thr	Asn		
					595					600					605		
gta	cca	aat	gta	cga	aat	gat	aac	cat	aac	gtg	gat	aaa	gta	cac	att	1994	
Val	Pro	Asn	Val	Arg	Asn	Asp	Asn	His	Asn	Val	Asp	Lys	Val	His	Ile		
		610					615					620					
gct	att	ata	gga	gat	ggt	ggt	tta	aca	ggt	gga	atg	gca	tta	gaa	gcg	2042	
Ala	Ile	Ile	Gly	Asp	Gly	Gly	Leu	Thr	Gly	Gly	Met	Ala	Leu	Glu	Ala		
		625					630					635					
tta	aat	tat	att	tca	ttc	ttg	aat	tct	aaa	att	tta	att	att	tat	aat	2090	
Leu	Asn	Tyr	Ile	Ser	Phe	Leu	Asn	Ser	Lys	Ile	Leu	Ile	Ile	Tyr	Asn		
640						645					650				655		
gat	aac	gga	caa	gtt	tct	tta	cca	aca	aat	gcc	gta	agt	ata	tca	ggt	2138	
Asp	Asn	Gly	Gln	Val	Ser	Leu	Pro	Thr	Asn	Ala	Val	Ser	Ile	Ser	Gly		
						660					665				670		
aat	aga	cct	ata	ggt	tct	ata	tca	gat	cat	tta	cat	tat	ttt	gtt	tct	2186	
Asn	Arg	Pro	Ile	Gly	Ser	Ile	Ser	Asp	His	Leu	His	Tyr	Phe	Val	Ser		
						675				680					685		
aat	ata	gaa	gca	aat	gct	ggt	gat	aat	aaa	tta	tcg	aaa	aat	gca	aaa	2234	
Asn	Ile	Glu	Ala	Asn	Ala	Gly	Asp	Asn	Lys	Leu	Ser	Lys	Asn	Ala	Lys		
						690					695				700		

12

gag aat aac att ttt gaa aat ttg aat tat gat tat att ggt gtt gtg 2282
 Glu Asn Asn Ile Phe Glu Asn Leu Asn Tyr Asp Tyr Ile Gly Val Val
 705 710 715

aat ggt aat aat aca gaa gag ctc ttt aaa gta tta aat aat ata aaa 2330
 Asn Gly Asn Asn Thr Glu Glu Leu Phe Lys Val Leu Asn Asn Ile Lys
 720 725 730 735

gaa aat aaa tta aaa aga gct act gtt ctt cat gta cgt aca aaa aaa 2378
 Glu Asn Lys Leu Lys Arg Ala Thr Val Leu His Val Arg Thr Lys Lys
 740 745 750

tcg aat gat ttt ata aat tca aag agt cca ata agt ata ttg cac tct 2426
 Ser Asn Asp Phe Ile Asn Ser Lys Ser Pro Ile Ser Ile Leu His Ser
 755 760 765

ata aag aaa aat gag att ttc cct ttc gat acc act ata tta aat gga 2474
 Ile Lys Lys Asn Glu Ile Phe Pro Phe Asp Thr Thr Ile Leu Asn Gly
 770 775 780

aat att cat aag gag aac aag ata gaa gaa gag aaa aat gtg tct tca 2522
 Asn Ile His Lys Glu Asn Lys Ile Glu Glu Glu Lys Asn Val Ser Ser
 785 790 795

tct aca aag tat gat gta aat aat aag aat aat aaa aat aat gat aat 2570
 Ser Thr Lys Tyr Asp Val Asn Asn Lys Asn Asn Lys Asn Asn Asp Asn
 800 805 810 815

agt gaa att ata aaa tat gaa gat atg ttt tca aaa gag acg ttc aca 2618
 Ser Glu Ile Ile Lys Tyr Glu Asp Met Phe Ser Lys Glu Thr Phe Thr
 820 825 830

gat ata tat aca aat gaa atg tta aaa tat tta aag aaa gat aga aat 2666
 Asp Ile Tyr Thr Asn Glu Met Leu Lys Tyr Leu Lys Lys Asp Arg Asn
 835 840 845

ata ata ttc cta tct ccc gct atg tta gga gga tca gga ttg gtt aaa 2714
 Ile Ile Phe Leu Ser Pro Ala Met Leu Gly Gly Ser Gly Leu Val Lys
 850 855 860

att agt gag cgt tat cca aat aat gta tat gat gta ggt ata gca gaa 2762

Ile Ser Glu Arg Tyr Pro Asn Asn Val Tyr Asp Val Gly Ile Ala Glu
 865 870 875

caa cat tct gta act ttc gca gca gct atg gca atg aat aag aaa tta 2810
 Gln His Ser Val Thr Phe Ala Ala Ala Met Ala Met Asn Lys Lys Leu
 880 885 890 895

aaa ata caa tta tgt ata tat tcg acc ttt tta caa aga gca tat gat 2858
 Lys Ile Gln Leu Cys Ile Tyr Ser Thr Phe Leu Gln Arg Ala Tyr Asp
 900 905 910

caa att ata cat gat ctt aat tta caa aat ata cct tta aag gtt ata 2906
 Gln Ile Ile His Asp Leu Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Val Ile
 915 920 925

att gga aga agt gga tta gta gga gag gat ggg gca aca cat caa ggt 2954
 Ile Gly Arg Ser Gly Leu Val Gly Glu Asp Gly Ala Thr His Gln Gly
 930 935 940

ata tat gat tta tct tat ctt ggg aca ctt aac aat gca tat ata ata 3002
 Ile Tyr Asp Leu Ser Tyr Leu Gly Thr Leu Asn Asn Ala Tyr Ile Ile
 945 950 955

tct cca agt aat caa gtt gat ttg aaa aga gct ctt agg ttt gct tat 3050
 Ser Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Ala Tyr
 960 965 970 975

tta gat aag gac cat tct gtg tat ata cgt ata ccc aga atg aac ata 3098
 Leu Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met Asn Ile
 980 985 990

tta agt gat aag tac atg aaa gga tat ttg aac att cat atg aaa aat 3146
 Leu Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Lys Asn
 995 1000 1005

gag agc aaa aat atc gat gta aac gtg gat ata aac gat gat gta gat 3194
 Glu Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val Asp
 1010 1015 1020

aaa tat agt gaa gaa tat atg gac gat gat aat ttt ata aaa tcg ttt 3242
 Lys Tyr Ser Glu Glu Tyr Met Asp Asp Asp Asn Phe Ile Lys Ser Phe
 1025 1030 1035

14

att gga aaa tct aga att att aaa atg gat aat gaa aat aat aat aca 3290
 Ile Gly Lys Ser Arg Ile Ile Lys Met Asp Asn Glu Asn Asn Asn Thr
 1040 1045 1050 1055

aat gaa cat tat tca agc aga gga gat aca cag aca aaa aaa aaa aaa 3338
 Asn Glu His Tyr Ser Ser Arg Gly Asp Thr Gln Thr Lys Lys Lys Lys
 1060 1065 1070

gtt tgt atc ttt aac atg ggt agt atg ctt ttt aat gta att aat gct 3386
 Val Cys Ile Phe Asn Met Gly Ser Met Leu Phe Asn Val Ile Asn Ala
 1075 1080 1085

ata aaa gaa att gaa aaa gaa caa tat att tca cat aat tat tct ttt 3434
 Ile Lys Glu Ile Glu Lys Glu Gln Tyr Ile Ser His Asn Tyr Ser Phe
 1090 1095 1100

tca att gtt gat atg ata ttt tta aat cct tta gat aaa aat atg ata 3482
 Ser Ile Val Asp Met Ile Phe Leu Asn Pro Leu Asp Lys Asn Met Ile
 1105 1110 1115

gat cat gta ata aaa caa aat aaa cat caa tat tta att act tat gaa 3530
 Asp His Val Ile Lys Gln Asn Lys His Gln Tyr Leu Ile Thr Tyr Glu
 1120 1125 1130 1135

gat aat act ata ggt ggt ttt tct aca cat ttc aat aat tat tta ata 3578
 Asp Asn Thr Ile Gly Gly Phe Ser Thr His Phe Asn Asn Tyr Leu Ile
 1140 1145 1150

gaa aat aat tat att aca aaa cat aac tta tat gtt cat aat att tat 3626
 Glu Asn Asn Tyr Ile Thr Lys His Asn Leu Tyr Val His Asn Ile Tyr
 1155 1160 1165

tta tct aat gag cca att gaa cat gca tct ttt aag gat caa caa gaa 3674
 Leu Ser Asn Glu Pro Ile Glu His Ala Ser Phe Lys Asp Gln Gln Glu
 1170 1175 1180

gtc gtc aaa atg gat aaa tgt agt ctt gtc aat aga att aaa aat tat 3722
 Val Val Lys Met Asp Lys Cys Ser Leu Val Asn Arg Ile Lys Asn Tyr
 1185 1190 1195

ctt aaa aat aat cct aca tgatgtaaga taaatatata tttctaaaat 3770

15

Leu Lys Asn Asn Pro Thr

1200

1205

tatttttttt ttatacttta atgtgtacaa taaaatatat atctaaatat attttatttg 3830

tacgcttttt tttttttttt ttttaattggt atttttgtat at

3872

<210> 4

<211> 1205

<212> PRT

<213> Plasmodium falciparum

<400> 4

Met Ile Phe Asn Tyr Val Phe Phe Lys Asn Phe Val Pro Val Val Leu

1

5

10

15

Tyr Ile Leu Leu Ile Ile Tyr Ile Asn Leu Asn Gly Met Asn Asn Lys

20

25

30

Asn Gln Ile Lys Thr Glu Lys Ile Tyr Ile Lys Lys Leu Asn Arg Leu

35

40

45

Ser Arg Lys Asn Ser Leu Cys Ser Ser Lys Asn Lys Ile Ala Cys Leu

50

55

60

Phe Asp Ile Gly Asn Asp Asp Asn Arg Asn Thr Thr Tyr Gly Tyr Asn

65

70

75

80

Val Asn Val Lys Asn Asp Asp Ile Asn Ser Leu Leu Lys Asn Asn Tyr

85

90

95

Ser Asn Lys Leu Tyr Met Asp Lys Arg Lys Asn Ile Asn Asn Val Ile

100

105

110

Ser Thr Asn Lys Ile Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Cys Ser Arg Asn

115

120

125

Gln Lys Glu Asn Glu Gln Lys Arg Asn Lys Gln Arg Cys Leu Thr Gln

130

135

140

Cys His Thr Tyr Asn Met Ser His Glu Gln Asp Lys Leu Ala Asn Asp

145 150 16 155 160
Asn Asn Arg Asn Asn Lys Lys Asn Phe Asn Leu Leu Phe Ile Asn Tyr
165 170 175
Phe Asn Leu Lys Arg Met Lys Asn Ser Leu Leu Asn Lys Asp Asn Phe
180 185 190
Phe Tyr Cys Lys Glu Lys Lys Leu Ser Phe Leu His Lys Ala Tyr Lys
195 200 205
Lys Lys Asn Cys Thr Phe Gln Asn Tyr Ser Leu Lys Arg Lys Ser Asn
210 215 220
Arg Asp Ser His Lys Leu Phe Ser Gly Glu Phe Asp Asp Tyr Thr Asn
225 230 235 240
Asn Asn Ala Leu Tyr Glu Ser Glu Lys Lys Glu Tyr Ile Thr Leu Asn
245 250 255
Asn Asn Asn Lys Asn Asn Asn Asn Lys Asn Asn Asp Asn Lys Asn Asn
260 265 270
Asp Asn Asn Asp Tyr Asn Asn Asn Asn Ser Cys Asn Asn Leu Gly Glu
275 280 285
Arg Ser Asn His Tyr Asp Asn Tyr Gly Gly Asp Asn Asn Asn Pro Cys
290 295 300
Asn Asn Asn Asn Asp Lys Tyr Asp Ile Gly Lys Tyr Phe Lys Gln Ile
305 310 315 320
Asn Thr Phe Ile Asn Ile Asp Glu Tyr Lys Thr Ile Tyr Gly Asp Glu
325 330 335
Ile Tyr Lys Glu Ile Tyr Glu Leu Tyr Val Glu Arg Asn Ile Pro Glu
340 345 350
Tyr Tyr Glu Arg Lys Tyr Phe Ser Glu Asp Ile Lys Lys Ser Val Leu
355 360 365
Phe Asp Ile Asp Lys Tyr Asn Asp Val Glu Phe Glu Lys Ala Ile Lys

370 375 380

Glu Glu Phe Ile Asn Asn Gly Val Tyr Ile Asn Asn Ile Asp Asn Thr
385 390 395 400

Tyr Tyr Lys Lys Glu Asn Ile Leu Ile Met Lys Lys Ile Leu His Tyr
405 410 415

Phe Pro Leu Leu Lys Leu Ile Asn Asn Pro Ser Asp Leu Lys Lys Leu
420 425 430

Lys Lys Gln Tyr Leu Pro Leu Leu Ala His Glu Leu Lys Ile Phe Leu
435 440 445

Phe Phe Ile Val Asn Ile Thr Gly Gly His Phe Ser Ser Val Leu Ser
450 455 460

Ser Leu Glu Ile Gln Leu Leu Leu Leu Tyr Ile Phe Asn Gln Pro Tyr
465 470 475 480

Asp Asn Val Ile Tyr Asp Ile Gly His Gln Ala Tyr Val His Lys Ile
485 490 495

Leu Thr Gly Arg Lys Leu Leu Phe Leu Ser Leu Arg Asn Lys Lys Gly
500 505 510

Ile Ser Gly Phe Leu Asn Ile Phe Glu Ser Ile Tyr Asp Lys Phe Gly
515 520 525

Ala Gly His Ser Ser Thr Ser Leu Ser Ala Ile Gln Gly Tyr Tyr Glu
530 535 540

Ala Glu Trp Gln Val Lys Asn Lys Glu Lys Tyr Gly Asn Gly Asp Ile
545 550 555 560

Glu Ile Ser Asp Asn Ala Asn Val Thr Asn Asn Glu Arg Ile Phe Gln
565 570 575

Lys Gly Ile His Asn Asp Asn Asn Ile Asn Asn Asn Ile Asn Asn Asn
580 585 590

Asn Tyr Ile Asn Pro Ser Asp Val Val Gly Arg Glu Asn Thr Asn Val

595 600 605

Pro Asn Val Arg Asn Asp Asn His Asn Val Asp Lys Val His Ile Ala
610 615 620

Ile Ile Gly Asp Gly Gly Leu Thr Gly Gly Met Ala Leu Glu Ala Leu
625 630 635 640

Asn Tyr Ile Ser Phe Leu Asn Ser Lys Ile Leu Ile Ile Tyr Asn Asp
645 650 655

Asn Gly Gln Val Ser Leu Pro Thr Asn Ala Val Ser Ile Ser Gly Asn
660 665 670

Arg Pro Ile Gly Ser Ile Ser Asp His Leu His Tyr Phe Val Ser Asn
675 680 685

Ile Glu Ala Asn Ala Gly Asp Asn Lys Leu Ser Lys Asn Ala Lys Glu
690 695 700

Asn Asn Ile Phe Glu Asn Leu Asn Tyr Asp Tyr Ile Gly Val Val Asn
705 710 715 720

Gly Asn Asn Thr Glu Glu Leu Phe Lys Val Leu Asn Asn Ile Lys Glu
725 730 735

Asn Lys Leu Lys Arg Ala Thr Val Leu His Val Arg Thr Lys Lys Ser
740 745 750

Asn Asp Phe Ile Asn Ser Lys Ser Pro Ile Ser Ile Leu His Ser Ile
755 760 765

Lys Lys Asn Glu Ile Phe Pro Phe Asp Thr Thr Ile Leu Asn Gly Asn
770 775 780

Ile His Lys Glu Asn Lys Ile Glu Glu Glu Lys Asn Val Ser Ser Ser
785 790 795 800

Thr Lys Tyr Asp Val Asn Asn Lys Asn Asn Lys Asn Asn Asp Asn Ser
805 810 815

Glu Ile Ile Lys Tyr Glu Asp Met Phe Ser Lys Glu Thr Phe Thr Asp

Ile Tyr Thr Asn Glu Met Leu Lys Tyr Leu Lys Lys Asp Arg Asn Ile
820 825 830
835 840 845

Ile Phe Leu Ser Pro Ala Met Leu Gly Gly Ser Gly Leu Val Lys Ile
850 855 860

Ser Glu Arg Tyr Pro Asn Asn Val Tyr Asp Val Gly Ile Ala Glu Gln
865 870 875 880

His Ser Val Thr Phe Ala Ala Ala Met Ala Met Asn Lys Lys Leu Lys
885 890 895

Ile Gln Leu Cys Ile Tyr Ser Thr Phe Leu Gln Arg Ala Tyr Asp Gln
900 905 910

Ile Ile His Asp Leu Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Val Ile Ile
915 920 925

Gly Arg Ser Gly Leu Val Gly Glu Asp Gly Ala Thr His Gln Gly Ile
930 935 940

Tyr Asp Leu Ser Tyr Leu Gly Thr Leu Asn Asn Ala Tyr Ile Ile Ser
945 950 955 960

Pro Ser Asn Gln Val Asp Leu Lys Arg Ala Leu Arg Phe Ala Tyr Leu
965 970 975

Asp Lys Asp His Ser Val Tyr Ile Arg Ile Pro Arg Met Asn Ile Leu
980 985 990

Ser Asp Lys Tyr Met Lys Gly Tyr Leu Asn Ile His Met Lys Asn Glu
995 1000 1005

Ser Lys Asn Ile Asp Val Asn Val Asp Ile Asn Asp Asp Val Asp Lys
1010 1015 1020

Tyr Ser Glu Glu Tyr Met Asp Asp Asp Asn Phe Ile Lys Ser Phe Ile
1025 1030 1035 1040

Gly Lys Ser Arg Ile Ile Lys Met Asp Asn Glu Asn Asn Asn Thr Asn

1045 1050 1055

Glu His Tyr Ser Ser Arg Gly Asp Thr Gln Thr Lys Lys Lys Lys Val
1060 1065 1070

Cys Ile Phe Asn Met Gly Ser Met Leu Phe Asn Val Ile Asn Ala Ile
1075 1080 1085

Lys Glu Ile Glu Lys Glu Gln Tyr Ile Ser His Asn Tyr Ser Phe Ser
1090 1095 1100

Ile Val Asp Met Ile Phe Leu Asn Pro Leu Asp Lys Asn Met Ile Asp
1105 1110 1115 1120

His Val Ile Lys Gln Asn Lys His Gln Tyr Leu Ile Thr Tyr Glu Asp
1125 1130 1135

Asn Thr Ile Gly Gly Phe Ser Thr His Phe Asn Asn Tyr Leu Ile Glu
1140 1145 1150

Asn Asn Tyr Ile Thr Lys His Asn Leu Tyr Val His Asn Ile Tyr Leu
1155 1160 1165

Ser Asn Glu Pro Ile Glu His Ala Ser Phe Lys Asp Gln Gln Glu Val
1170 1175 1180

Val Lys Met Asp Lys Cys Ser Leu Val Asn Arg Ile Lys Asn Tyr Leu
1185 1190 1195 1200

Lys Asn Asn Pro Thr
1205

<210> 5

<211> 3147

<212> DNA

<213> Plasmodium falciparum

<220>

<221> CDS

<222> (199) .. (2670)

<400> 5

tttcattttt ctttaccac atatatatat atatatatat aatatatata tataatatta 60

tatatttgat atatgattta aaattgtaac ataaaaaaaa taattatatt aaatatgtgt 120

atacatctcc aacatataaa tattattttt tattattatt tttttttttt tttttcataa 180

tgcctgaata accacaaa atg agt tat ata aaa aga ctg att ctt ttt atg 231

Met Ser Tyr Ile Lys Arg Leu Ile Leu Phe Met

1

5

10

tta ctg ttt tat tct cat gta aaa att aaa aaa tta ttt att aaa att 279

Leu Leu Phe Tyr Ser His Val Lys Ile Lys Lys Leu Phe Ile Lys Ile

15

20

25

tct aat gta aac ata ttt ttt gca gaa gca aag aaa aat gga aaa aag 327

Ser Asn Val Asn Ile Phe Phe Ala Glu Ala Lys Lys Asn Gly Lys Lys

30

35

40

gaa ttc ttt ctt ttt tta cta aat ata aaa aaa aat agc caa cag aaa 375

Glu Phe Phe Leu Phe Leu Leu Asn Ile Lys Lys Asn Ser Gln Gln Lys

45

50

55

aaa act tat cat att acc aaa agg aat acc ata aat aaa agt gat ttt 423

Lys Thr Tyr His Ile Thr Lys Arg Asn Thr Ile Asn Lys Ser Asp Phe

60

65

70

75

tta tat tct tta cta aat gaa gaa ggg aat tct tca aaa aag gaa tat 471

Leu Tyr Ser Leu Leu Asn Glu Glu Gly Asn Ser Ser Lys Lys Glu Tyr

80

85

90

aaa aat tta aaa gat gaa gaa aaa tat aat atc ata caa aat ata aaa 519

Lys Asn Leu Lys Asp Glu Glu Lys Tyr Asn Ile Ile Gln Asn Ile Lys

95

100

105

aaa tat tgt gaa tgt act aaa aaa tat aaa agg ctc cca aca cga gaa 567

Lys Tyr Cys Glu Cys Thr Lys Lys Tyr Lys Arg Leu Pro Thr Arg Glu

110

115

120

gta gtt att gga aat gtt aaa att gga gga aat aat aaa ata gct att 615

Val Val Ile Gly Asn Val Lys Ile Gly Gly Asn Asn Lys Ile Ala Ile

125	130	135	
caa act atg gct agc tgt gat aca aga aat gta gaa gaa tgt gta tat 663			
Gln Thr Met Ala Ser Cys Asp Thr Arg Asn Val Glu Glu Cys Val Tyr			
140	145	150	155
caa att aga aaa tgt aaa gat ttg ggt gct gac att gta agg ttg act 711			
Gln Ile Arg Lys Cys Lys Asp Leu Gly Ala Asp Ile Val Arg Leu Thr			
	160	165	170
gtt caa gga gtt caa gaa gca caa gct agt tat cat att aaa gaa aaa 759			
Val Gln Gly Val Gln Glu Ala Gln Ala Ser Tyr His Ile Lys Glu Lys			
	175	180	185
tta tta tct gaa aat gta aat atc cca tta gta gca gat att cat ttt 807			
Leu Leu Ser Glu Asn Val Asn Ile Pro Leu Val Ala Asp Ile His Phe			
	190	195	200
aat cct aaa ata gct tta atg gca gct gat gtg ttt gaa aaa att cga 855			
Asn Pro Lys Ile Ala Leu Met Ala Ala Asp Val Phe Glu Lys Ile Arg			
	205	210	215
gtg aat cca gga aat tat gtt gat gga aga aaa aaa tgg ata gat aaa 903			
Val Asn Pro Gly Asn Tyr Val Asp Gly Arg Lys Lys Trp Ile Asp Lys			
220	225	230	235
gtt tat aaa act aaa gaa gaa ttt gat gaa ggg aaa tta ttt ata aaa 951			
Val Tyr Lys Thr Lys Glu Glu Phe Asp Glu Gly Lys Leu Phe Ile Lys			
	240	245	250
gaa aaa ttt gta cca tta att gaa aaa tgt aaa aga tta aat aga gca 999			
Glu Lys Phe Val Pro Leu Ile Glu Lys Cys Lys Arg Leu Asn Arg Ala			
	255	260	265
ata aga att gga aca aat cat gga tcc ctt tca tct cga gta tta tca 1047			
Ile Arg Ile Gly Thr Asn His Gly Ser Leu Ser Ser Arg Val Leu Ser			
	270	275	280
tat tat gga gat aca cca tta ggt atg gta gaa tcg gct ttt gag ttt 1095			
Tyr Tyr Gly Asp Thr Pro Leu Gly Met Val Glu Ser Ala Phe Glu Phe			
285	290	295	

tct gat tta tgt att gaa aac aat ttt tac aat ctt gtt ttt tct atg	1143
Ser Asp Leu Cys Ile Glu Asn Asn Phe Tyr Asn Leu Val Phe Ser Met	
300 305 310 315	
aaa gct tct aat gct tat gtt atg ata caa tct tat aga tta tta gta	1191
Lys Ala Ser Asn Ala Tyr Val Met Ile Gln Ser Tyr Arg Leu Leu Val	
320 325 330	
tct aaa caa tat gaa aga aat atg atg ttc cct ata cat tta gga gtt	1239
Ser Lys Gln Tyr Glu Arg Asn Met Met Phe Pro Ile His Leu Gly Val	
335 340 345	
aca gaa gca gga ttt ggt gat aat gga aga ata aaa tct tat tta ggt	1287
Thr Glu Ala Gly Phe Gly Asp Asn Gly Arg Ile Lys Ser Tyr Leu Gly	
350 355 360	
ata gga tct tta tta tat gat ggt ata gga gat acc att cgt ata tcc	1335
Ile Gly Ser Leu Leu Tyr Asp Gly Ile Gly Asp Thr Ile Arg Ile Ser	
365 370 375	
tta aca gaa gat cct tgg gaa gag tta act cct tgt aaa aaa tta gtt	1383
Leu Thr Glu Asp Pro Trp Glu Glu Leu Thr Pro Cys Lys Lys Leu Val	
380 385 390 395	
gaa aat tta aag aaa aga ata ttt tat aat gaa aat ttt aaa gaa gat	1431
Glu Asn Leu Lys Lys Arg Ile Phe Tyr Asn Glu Asn Phe Lys Glu Asp	
400 405 410	
aat gaa tta aaa aat aat gaa atg gat acc aaa aat cta tta aat ttt	1479
Asn Glu Leu Lys Asn Asn Glu Met Asp Thr Lys Asn Leu Leu Asn Phe	
415 420 425	
gaa gaa aat tat cga aat ttt aat aat ata aaa aaa aga aat gta gaa	1527
Glu Glu Asn Tyr Arg Asn Phe Asn Asn Ile Lys Lys Arg Asn Val Glu	
430 435 440	
aaa aat aat aat gta tta cat gaa gag tgc act ata ggt aat gta gta	1575
Lys Asn Asn Asn Val Leu His Glu Glu Cys Thr Ile Gly Asn Val Val	
445 450 455	
acc ata aaa gag tta gaa gat tct ctg caa att ttt aaa gat tta aat	1623
Thr Ile Lys Glu Leu Glu Asp Ser Leu Gln Ile Phe Lys Asp Leu Asn	

460	465	470	475
tta gaa gta gat tca aat gga aat ttg aaa aag gga gcc aaa aca act			1671
Leu Glu Val Asp Ser Asn Gly Asn Leu Lys Lys Gly Ala Lys Thr Thr			
	480	485	490
gat atg gtt att ata aat gat ttt cat aat ata aca aat tta gga aaa			1719
Asp Met Val Ile Ile Asn Asp Phe His Asn Ile Thr Asn Leu Gly Lys			
	495	500	505
aaa act gtg gat aaa tta atg caa gtg gga att aat ata gta gtt caa			1767
Lys Thr Val Asp Lys Leu Met Gln Val Gly Ile Asn Ile Val Val Gln			
	510	515	520
tat gaa cca cat aat ata gaa ttt ata gaa aaa atg gaa cca aat aat			1815
Tyr Glu Pro His Asn Ile Glu Phe Ile Glu Lys Met Glu Pro Asn Asn			
	525	530	535
gat aat aat aat aat aat aat aat aat aat ata tta ttt tat gtg gat			1863
Asp Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Asn Ile Leu Phe Tyr Val Asp			
	540	545	550
			555
ata aaa aat att atg aac agt tca gaa aaa aat att aaa tta agt aat			1911
Ile Lys Asn Ile Met Asn Ser Ser Glu Lys Asn Ile Lys Leu Ser Asn			
	560	565	570
tct aaa gga tat gga tta att tta aac gga aaa gaa gat ata caa acc			1959
Ser Lys Gly Tyr Gly Leu Ile Leu Asn Gly Lys Glu Asp Ile Gln Thr			
	575	580	585
ata aaa aaa ata aaa gaa tta aat cgt cgt cct tta ttc att cta tta			2007
Ile Lys Lys Ile Lys Glu Leu Asn Arg Arg Pro Leu Phe Ile Leu Leu			
	590	595	600
aaa tca gat aac ata tat gaa cat gta tta ata acc aga aga att aat			2055
Lys Ser Asp Asn Ile Tyr Glu His Val Leu Ile Thr Arg Arg Ile Asn			
	605	610	615
gaa ctt tta caa tcc tta aat ata aat ata cct tat ata cat tat gtt			2103
Glu Leu Leu Gln Ser Leu Asn Ile Asn Ile Pro Tyr Ile His Tyr Val			
	620	625	630
			635

25

gat att aat tca aac aat tat gat gat ata tta gtt aat tca aca tta	2151
Asp Ile Asn Ser Asn Asn Tyr Asp Asp Ile Leu Val Asn Ser Thr Leu	
640 645 650	
tat gca gga agt tgt ttg atg gat tta atg ggg gat ggt ctt att gtt	2199
Tyr Ala Gly Ser Cys Leu Met Asp Leu Met Gly Asp Gly Leu Ile Val	
655 660 665	
aac gta act aat gat gtt ctt aca aat aaa aaa aag ata gaa aca aaa	2247
Asn Val Thr Asn Asp Val Leu Thr Asn Lys Lys Lys Ile Glu Thr Lys	
670 675 680	
tat gat gaa aaa gaa gaa gta gag gaa gag gga aac aat aaa gat att	2295
Tyr Asp Glu Lys Glu Glu Val Glu Glu Glu Gly Asn Asn Lys Asp Ile	
685 690 695	
cat aga ctt ttg agc aga gtt gca tta aat tca ttt tta aca tta aat	2343
His Arg Leu Leu Ser Arg Val Ala Leu Asn Ser Phe Leu Thr Leu Asn	
700 705 710 715	
att tta caa gat aca aga ata cgt tta ttt aaa aca gat tat ata gcc	2391
Ile Leu Gln Asp Thr Arg Ile Arg Leu Phe Lys Thr Asp Tyr Ile Ala	
720 725 730	
tgc cca tct tgt gga aga act tta ttt aat ata caa gaa act act aaa	2439
Cys Pro Ser Cys Gly Arg Thr Leu Phe Asn Ile Gln Glu Thr Thr Lys	
735 740 745	
aaa att atg aaa tta aca ggg cac tta aaa ggc gtt aaa att gca gtc	2487
Lys Ile Met Lys Leu Thr Gly His Leu Lys Gly Val Lys Ile Ala Val	
750 755 760	
atg gga tgt att gtt aat ggt ata gga gaa atg gca gat gca cat ttt	2535
Met Gly Cys Ile Val Asn Gly Ile Gly Glu Met Ala Asp Ala His Phe	
765 770 775	
ggg tat gtt ggt agt gca cct aaa aaa att gat tta tat tat ggt aaa	2583
Gly Tyr Val Gly Ser Ala Pro Lys Lys Ile Asp Leu Tyr Tyr Gly Lys	
780 785 790 795	
gag tta gta gaa aga aat ata cct gag gaa gaa gct tgt gat aaa ttg	2631
Glu Leu Val Glu Arg Asn Ile Pro Glu Glu Glu Ala Cys Asp Lys Leu	

800

805 26

810

ata gaa tta att aaa aaa cat aac aaa tgg aaa gat cca taaattgaat 2680

Ile Glu Leu Ile Lys Lys His Asn Lys Trp Lys Asp Pro

815

820

atggacaagt atttatttat ttatttatct tatatataat atattataaa tttttcgatg 2740

tatttttcct tttaaaattt tatttttttt ttattttttt ttttgaagta atatttataa 2800

tgcatacata atattaaaat gtgtattata taataatatac attttattgt tatttttaaaa 2860

gactaatacc aagaacaatt ttttaataat cattcttata acttggttaa tatatatata 2920

tatatatata tattttattta tttatatatta tattttattta tttttggtat atgaaaagta 2980

aaaatataat aattttaaag tattttacaaa ataaataata ttatatatct gtttttatat 3040

atatgttaat ggaaaaggag aaaataaata aataaaacaa acaaaataac atatatatat 3100

atatatatat actgaatgag aaagaaaaaa aaaagaaaag gatacga 3147

<210> 6

<211> 824

<212> PRT

<213> Plasmodium falciparum

<400> 6

Met Ser Tyr Ile Lys Arg Leu Ile Leu Phe Met Leu Leu Phe Tyr Ser

1

5

10

15

His Val Lys Ile Lys Lys Leu Phe Ile Lys Ile Ser Asn Val Asn Ile

20

25

30

Phe Phe Ala Glu Ala Lys Lys Asn Gly Lys Lys Glu Phe Phe Leu Phe

35

40

45

Leu Leu Asn Ile Lys Lys Asn Ser Gln Gln Lys Lys Thr Tyr His Ile

50

55

60

Thr Lys Arg Asn Thr Ile Asn Lys Ser Asp Phe Leu Tyr Ser Leu Leu

27
65 70 75 80
Asn Glu Glu Gly Asn Ser Ser Lys Lys Glu Tyr Lys Asn Leu Lys Asp
85 90 95
Glu Glu Lys Tyr Asn Ile Ile Gln Asn Ile Lys Lys Tyr Cys Glu Cys
100 105 110
Thr Lys Lys Tyr Lys Arg Leu Pro Thr Arg Glu Val Val Ile Gly Asn
115 120 125
Val Lys Ile Gly Gly Asn Asn Lys Ile Ala Ile Gln Thr Met Ala Ser
130 135 140
Cys Asp Thr Arg Asn Val Glu Glu Cys Val Tyr Gln Ile Arg Lys Cys
145 150 155 160
Lys Asp Leu Gly Ala Asp Ile Val Arg Leu Thr Val Gln Gly Val Gln
165 170 175
Glu Ala Gln Ala Ser Tyr His Ile Lys Glu Lys Leu Leu Ser Glu Asn
180 185 190
Val Asn Ile Pro Leu Val Ala Asp Ile His Phe Asn Pro Lys Ile Ala
195 200 205
Leu Met Ala Ala Asp Val Phe Glu Lys Ile Arg Val Asn Pro Gly Asn
210 215 220
Tyr Val Asp Gly Arg Lys Lys Trp Ile Asp Lys Val Tyr Lys Thr Lys
225 230 235 240
Glu Glu Phe Asp Glu Gly Lys Leu Phe Ile Lys Glu Lys Phe Val Pro
245 250 255
Leu Ile Glu Lys Cys Lys Arg Leu Asn Arg Ala Ile Arg Ile Gly Thr
260 265 270
Asn His Gly Ser Leu Ser Ser Arg Val Leu Ser Tyr Tyr Gly Asp Thr
275 280 285
Pro Leu Gly Met Val Glu Ser Ala Phe Glu Phe Ser Asp Leu Cys Ile

290 295 300

Glu Asn Asn Phe Tyr Asn Leu Val Phe Ser Met Lys Ala Ser Asn Ala
305 310 315 320

Tyr Val Met Ile Gln Ser Tyr Arg Leu Leu Val Ser Lys Gln Tyr Glu
325 330 335

Arg Asn Met Met Phe Pro Ile His Leu Gly Val Thr Glu Ala Gly Phe
340 345 350

Gly Asp Asn Gly Arg Ile Lys Ser Tyr Leu Gly Ile Gly Ser Leu Leu
355 360 365

Tyr Asp Gly Ile Gly Asp Thr Ile Arg Ile Ser Leu Thr Glu Asp Pro
370 375 380

Trp Glu Glu Leu Thr Pro Cys Lys Lys Leu Val Glu Asn Leu Lys Lys
385 390 395 400

Arg Ile Phe Tyr Asn Glu Asn Phe Lys Glu Asp Asn Glu Leu Lys Asn
405 410 415

Asn Glu Met Asp Thr Lys Asn Leu Leu Asn Phe Glu Glu Asn Tyr Arg
420 425 430

Asn Phe Asn Asn Ile Lys Lys Arg Asn Val Glu Lys Asn Asn Asn Val
435 440 445

Leu His Glu Glu Cys Thr Ile Gly Asn Val Val Thr Ile Lys Glu Leu
450 455 460

Glu Asp Ser Leu Gln Ile Phe Lys Asp Leu Asn Leu Glu Val Asp Ser
465 470 475 480

Asn Gly Asn Leu Lys Lys Gly Ala Lys Thr Thr Asp Met Val Ile Ile
485 490 495

Asn Asp Phe His Asn Ile Thr Asn Leu Gly Lys Lys Thr Val Asp Lys
500 505 510

Leu Met Gln Val Gly Ile Asn Ile Val Val Gln Tyr Glu Pro His Asn

515 520 525
Ile Glu Phe Ile Glu Lys Met Glu Pro Asn Asn Asp Asn Asn Asn Asn
530 535 540
Asn Asn Asn Asn Asn Ile Leu Phe Tyr Val Asp Ile Lys Asn Ile Met
545 550 555 560
Asn Ser Ser Glu Lys Asn Ile Lys Leu Ser Asn Ser Lys Gly Tyr Gly
565 570 575
Leu Ile Leu Asn Gly Lys Glu Asp Ile Gln Thr Ile Lys Lys Ile Lys
580 585 590
Glu Leu Asn Arg Arg Pro Leu Phe Ile Leu Leu Lys Ser Asp Asn Ile
595 600 605
Tyr Glu His Val Leu Ile Thr Arg Arg Ile Asn Glu Leu Leu Gln Ser
610 615 620
Leu Asn Ile Asn Ile Pro Tyr Ile His Tyr Val Asp Ile Asn Ser Asn
625 630 635 640
Asn Tyr Asp Asp Ile Leu Val Asn Ser Thr Leu Tyr Ala Gly Ser Cys
645 650 655
Leu Met Asp Leu Met Gly Asp Gly Leu Ile Val Asn Val Thr Asn Asp
660 665 670
Val Leu Thr Asn Lys Lys Lys Ile Glu Thr Lys Tyr Asp Glu Lys Glu
675 680 685
Glu Val Glu Glu Glu Gly Asn Asn Lys Asp Ile His Arg Leu Leu Ser
690 695 700
Arg Val Ala Leu Asn Ser Phe Leu Thr Leu Asn Ile Leu Gln Asp Thr
705 710 715 720
Arg Ile Arg Leu Phe Lys Thr Asp Tyr Ile Ala Cys Pro Ser Cys Gly
725 730 735
Arg Thr Leu Phe Asn Ile Gln Glu Thr Thr Lys Lys Ile Met Lys Leu